

Virulensi Wereng Batang Cokelat (*Nilaparvata lugens* Stål) dan Strategi Pengelolaannya (Virulence of Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) and its Management Strategies)

Chaerani

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; E-mail: chaeran1@yahoo.com

Diajukan: 2 Februari 2017; Direvisi: 3 April 2017; Diterima: 10 Mei 2017

ABSTRACT

Brown planthopper (BPH) emerged as serious pest of rice in Asia as a result of green revolution. BPH outbreak is supported by its monofagous feeding behavior on rice, high fecundity, and ability to long distance migration. BPH is labile in virulence and capable of rapid adaptation on new resistant varieties. The terminology 'biotype' to describe BPH virulence is still debatable because of individual virulence and genetic variation within a biotype. This paper reviews the biology, biochemistry, interaction with endosymbionts, and genetics aspects of BPH to reveal virulence basis of BPH for improvement of BPH management strategies. At the molecular level, differential expression profiles of genes related to digestion, saliva secretion, detoxification, metabolisms of lipid, carbohydrate, amino acid, and nitrogen; signaling pathways of defense, stress, and immunity responses were noted among BPH population with differential virulence. Research in genomics revealed complementary interaction between BPH and endosymbiotic microorganisms, but experiments using aposymbiotic BPH showed that endosymbiont densities do not always positively correlated with BPH virulence. In contrast to the previous finding, recent genetic mapping of BPH *Avr* gene using inbred populations revealed that BPH virulence is monogenically controlled. With this finding, a gene-for-gene relationship between BPH and its host can be established. Strategies for utilizing resistant varieties to anticipate virulence adaptation according to the dynamics of resistant rice varieties deployed in the field are discussed in this paper.

Keywords: Brown planthopper, virulence, biotype, adaptation, endosymbiont.

ABSTRAK

Wereng batang cokelat (WBC) timbul menjadi hama utama padi di Asia sebagai dampak revolusi hijau. Ledakan populasi WBC didukung oleh perilaku WBC yang monofagus pada padi, keperidian tinggi, dan kemampuan migrasi jarak jauh. WBC bersifat labil dalam virulensi dan mampu beradaptasi pada varietas tahan. Penggunaan istilah 'biotipe' untuk pengelompokan virulensi WBC masih diperdebatkan karena adanya variasi virulensi dan genetik antarindividu dalam satu biotipe. Makalah tinjauan ini membahas aspek strategi hidup dan makan, biokimia, interaksi dengan endosimbion, dan genetik WBC untuk mengetahui basis adaptasi virulensi WBC sehingga dapat digunakan dalam perbaikan strategi pengelolaan hama ini. Pada level molekuler, virulensi ditandai dengan peningkatan profil ekspresi gen-gen yang berkaitan dengan detoksifikasi senyawa alelokemik tanaman; metabolisme lipid, karbohidrat, asam amino, dan nitrogen; jalur lintas pensinyalan respons pertahanan, respons terhadap cekaman, dan respons kekebalan. Penelitian genomik mengungkap interaksi komplementer antara WBC dan mikroorganisme endosimbion, tetapi percobaan menggunakan WBC aposimbiotik menunjukkan bahwa kepadatan endosimbion tidak selalu berkorelasi positif dengan virulensi WBC. Bertolak belakang dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya, pemetaan genetik gen virulensi menggunakan tetua *inbred* menunjukkan bahwa virulensi WBC dikendalikan secara monogenik sehingga hubungan *gene-for-gene* antara WBC dengan tanaman padi berlaku. Strategi penanaman varietas tahan untuk mengantisipasi adaptasi virulensi WBC seiring dengan dinamika varietas padi yang ditanam di lapangan dibahas dalam makalah ini.

Kata kunci: Wereng batang cokelat, virulensi, biotipe, adaptasi, endosimbion.

PENDAHULUAN

Wereng batang coklat (WBC, *Nilaparvata lugens* Stål [Hemiptera: Delphacidae]) semula merupakan hama minor padi di Asia sebelum revolusi hijau pada tahun 1960-an (Cohen et al. 1997; Sogawa 1982). Ledakan populasi WBC terjadi akibat penanaman varietas padi berumur genjah berdaya hasil tinggi sebanyak 2–3 kali per tahun diiringi dengan pemupukan nitrogen yang tinggi. Di samping itu, ledakan populasi WBC juga dipicu oleh matinya musuh alami akibat aplikasi insektisida kimia yang kurang tepat sasaran secara berlebihan dan pada dosis subletal sehingga memicu resurgensi dan resistensi WBC terhadap berbagai bahan aktif insektisida (Cohen et al. 1997). Selain merusak tanaman padi secara langsung dengan mengisap cairan (*sap*) dari jaringan floem, WBC juga menularkan virus penyebab penyakit kerdil hampa dan kerdil rumput sehingga kerusakan akibat serangan WBC berlipat ganda (Saxena dan Barrion 1983).

Aktivitas makan oleh serangga muda (nimfa) dan dewasa (imago) di tanaman padi pada stadia vegetatif menurunkan laju pertumbuhan tanaman karena adanya pengurangan area dan laju fotosintetik, konsentrasi nitrogen pada daun dan batang, kandungan klorofil, dan bobot kering tanaman (Watanabe dan Kitagawa 2000). Kepadatan populasi WBC yang tinggi pada stadia generatif tanaman padi yang rentan menyebabkan tanaman layu dan mengering dengan cepat yang dimulai dari daun-daun tua, kemudian berkembang secara progresif ke daun-daun yang lebih muda sehingga tanaman tampak seperti terbakar atau *hopperburn* (Sogawa 1982).

Penanaman varietas IR5 dan IR8 yang berdaya hasil tinggi dari *International Rice Research Institute* (IRRI) pada awal tahun 1970-an di kawasan Asia memicu ledakan populasi WBC yang kemudian dikenal sebagai biotipe 1 (Baehaki 2012). Setelah itu, varietas padi yang mengandung gen ketahanan terhadap WBC (gen *brown planthopper*, *Bph*) dikembangkan di IRRI sebagai cara yang ekonomis dan ramah lingkungan untuk mengatasi WBC biotipe 1 (Cohen et al. 1997). Gen-gen ketahanan terhadap WBC diperoleh dari varietas-varietas tradisional seperti Mudgo dan ASD7 yang secara berurutan diidentifikasi mengandung gen *Bph1* dan *bph2*. Varietas IR26 yang mengandung gen *Bph1* dilepas di Asia pada tahun 1973 untuk mengatasi biotipe 2, kemudian varietas IR36 dan IR42 dengan gen *bph2* dilepas pada tahun 1975 untuk mengatasi biotipe 3 (Cohen et al. 1997; Saxena dan Barrion 1983). Setelah timbul biotipe 3 pada awal 1980-an, varietas IR56 dan IR60 yang

mengandung gen *Bph3* mulai diintroduksi ke petani (Brar et al. 2009). Adaptasi WBC pada varietas tahan ditandai oleh peningkatan daya bertahan (*survival*), bobot tubuh, ekskresi embun madu, dan reproduksi (Chen et al. 2011; Pathak dan Heinrichs 1982). Populasi WBC dari lapangan yang dipelihara secara monokultur pada varietas tahan selama 5–10 generasi akan mengalami spesialisasi pada varietas tersebut, tetapi kurang dapat beradaptasi pada varietas lain (Claridge dan Den Hollander 1980, 1982; Pathak dan Heinrichs 1982; Saxena dan Barrion 1983).

Penggunaan istilah biotipe pada WBC masih diperdebatkan karena mekanisme evolusi dan genetika yang mendasari perbedaan fenotipe belum terbukti. Klasifikasi virulensi WBC ke dalam kategori taksonomi biotipe bersifat semu karena pengelompokannya didasarkan pada individu-individu dengan kesamaan fenotipe terhadap seleksi variabel ekologi (varietas tahan) yang tidak ada basis genetiknya (Claridge dan Den Hollander 1983; Diehl dan Bush 1984). Populasi biotipe WBC sebenarnya terdiri atas individu-individu yang tumpang tindih virulensinya sehingga suatu biotipe WBC dapat mengandung individu dengan karakter biotipe lain. Karena alasan tersebut dan belum terkonfirmasinya interaksi spesifik gen virulensi WBC dengan gen *Bph* pada padi, Claridge dan Den Hollander (1983) berpendapat bahwa istilah biotipe tidak dapat digunakan untuk mendeskripsikan ras WBC dan sebaiknya digunakan secara temporer.

Faktor utama adaptasi virulensi WBC pada varietas tahan belum dapat diidentifikasi secara pasti, walaupun perilaku makan, fisiologi, biokimia, genetika WBC, dan interaksinya yang kompleks dengan mikroorganisme endosimbion telah banyak dipelajari. Adanya variasi individual di dalam biotipe telah membawa kajian genetik terdahulu pada kesimpulan bahwa virulensi WBC dikendalikan oleh banyak gen (Cheng 1985; Sogawa 1981; Tanaka 1999), sedangkan analisis genetik terbaru menunjukkan bahwa virulensi WBC dikendalikan secara monogenik (Jing et al. 2014; Kobayashi et al. 2014). Draf sekuen genom WBC berikut genom YLS dan bakteri simbiosis telah mengungkap saling ketergantungan ketiga organisme dalam mendapatkan nutrisi dari tanaman (Xue et al. 2014).

Adaptasi virulensi WBC sesuai dinamika penanaman varietas tahan yang ditanam di lapang berimplikasi serius terhadap durabilitas varietas tahan. Pemahaman mengenai basis virulensi WBC dapat membantu perumusan metode pengelolaan WBC menggunakan varietas tahan secara lebih baik. Makalah tinjauan ini membahas pengetahuan terkini

mengenai strategi hidup, perilaku makan, biokimia, fenotipe biotipe, kompleksitas simbiosis WBC dengan mikroorganisme, dan genetika virulensi WBC yang dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme adaptasi virulensi WBC dan merumuskan strategi pengelolaannya.

STRATEGI HIDUP DAN MAKAN WBC

WBC adalah hama berstrategi hidup 'r' yang dicirikan oleh ukuran tubuh kecil (panjang tubuh serangga imago 2–3,5 mm), siklus hidup pendek (28–44 hari), dan keperidian tinggi (Pathak dan Khan 1994; Sogawa 1982). Imago betina meletakkan kelompok telur yang terdiri atas 4–10 butir per kelompok dengan total 300–350 butir di dalam jaringan pelepah bagian bawah dan pada helaian daun (Mochida dan Okada 1979). Nimfa mengalami lima kali pergantian kulit sebelum menjadi imago (Pathak dan Khan 1994). Alat makannya berupa stilet dengan panjang 650–700 μm yang berfungsi sebagai penusuk dan pengisap jaringan padi.

Imago WBC memiliki dimorfisme sayap (Pathak dan Khan 1994). Imago bersayap panjang (makroptera) terbentuk jika terjadi kepadatan populasi tinggi dan penurunan daya dukung tanaman inang. Makroptera beradaptasi untuk terbang jauh dibantu angin untuk mengkoloni sawah yang baru ditanami. Imago bersayap pendek (brakiptera) bertubuh lebih besar dengan tungkai dan ovipositor yang lebih panjang sehingga lebih sesuai untuk bereproduksi dibanding dengan imago makroptera.

Serangga ini merupakan organisme diploid dengan jumlah kromosom 30 (28 autosom dengan 2 kromosom X pada betina, atau 1 kromosom X dan 1 kromosom Y pada jantan (Noda 1990) dan ukuran genomnya sebesar 1,2 Gbp (Xue et al. 2014). Rekonstruksi filogenetik menggunakan 318 gen-gen *ortholog* dengan 15 serangga dari taksa berbeda menunjukkan bahwa WBC berada dalam satu gerombol dengan serangga penusuk pengisap *Rhodnius prolixus* yang termasuk ke dalam ordo Hemiptera sehingga WBC dikeluarkan dari ordo Homoptera dan dimasukkan ke dalam ordo Hemiptera (Xue et al. 2014).

WBC bersifat monofagus pada padi. *Sibling*-nya yang secara evolusi terpisah sejak 0,25 juta tahun lalu ditemukan di Asia Tenggara dan hanya dapat hidup pada rumput *Leersia hexandra* (Claridge et al. 1985; Sogawa et al. 1984). *Sibling* WBC ini diduga merupakan biotipe primitif atau nonvirulen dari WBC (Latif et al. 2008). Draft genom WBC berukuran 1,14 Gbp dan 27.571 gen di antaranya adalah pengode protein,

namun hanya 40,8% dari gen ini yang homolog dengan proteom dari 14 spesies artropoda. Komponen-komponen dalam keluarga gen reseptor kimia, detoksifikasi, dan enzim pencernaan telah berkurang atau hilang yang diduga berkaitan dengan perilaku WBC yang spesialis memakan padi (Xue et al. 2014).

Proses pencarian, penerimaan, kesesuaian, pengaturan inang, dan makan WBC sangat kompleks, melibatkan berbagai senyawa kimia, termasuk metabolit sekunder volatil sebagai stimulan. Perilaku makan WBC terdiri atas (1) orientasi inang, (2) eksplorasi epidermis tanaman, (3) pemeriksaan oleh stilet (*probing*) untuk pemilihan situs makan, (4) insersi stilet dan penetrasi jaringan tanaman, (5) pengisapan dan pengambilan makanan (*ingesti*), dan (6) ekskresi embun madu (*honeydew*) (Cheng et al. 2013; Sogawa 1982). Saliva yang diproduksi oleh kelenjar saliva pada bagian ventral stilet adalah substansi pertama yang kontak secara kimiawi dengan tanaman. Peran saliva sangat penting dalam pencernaan makanan dan interaksi dengan tanaman padi. Analisis komparatif level ekspresi transkrip 3.757 unigen dari kelenjar saliva menunjukkan perbedaan level ekspresi antara WBC yang dipelihara pada TN1 yang tidak memiliki gen *Bph* (populasi T) dan Mudgo yang mengandung gen *Bph1* (populasi M) (Ji et al. 2013). Gen-gen ini berhubungan dengan metabolisme, pencernaan, absorpsi, dan sekresi salivari sehingga diduga berasosiasi dengan virulensi. Enam puluh tujuh gen di antaranya diduga berperan paling besar dalam perubahan virulensi.

BIOKIMIA WBC

Respons molekuler WBC terhadap senyawa alelokemik tanaman dan strategi untuk mengatasi protein tanaman berupa regulasi ekspresi gen-gen yang memberikan ketahanan metabolik dan yang terlibat dalam jalur penyinyalan dalam respons pertahanan atau respons terhadap cekaman. Ekspresi gen *cytochrome P450 monooxygenase* (*P450*), *carboxylesterase* (*CAR*), *glutathione S-transferase* (*GST*), *NADH-quinone oxidoreductase* (*NQO*), subunit B dari *phosphatase PP2A*, *nemo kinase*, dan *propyl endopeptidase* meningkat pada populasi WBC yang makan pada varietas dengan ketahanan tinggi dan moderat dibanding dengan populasi T (Yang et al. 2006; Yu et al. 2014). Gen *P450*, *CAR*, *NQO*, dan *propyl endopeptidase* mendetoksifikasi senyawa beracun, *GST* memberikan perlindungan terhadap cekaman dan kerusakan oksidatif, sedangkan *PP2A* dan *nemo kinase* terlibat dalam jalur penyinyalan. Perbedaan

profil ekspresi gen-gen yang berkaitan dengan detoksifikasi dan respons pertahanan atau respons terhadap cekaman antara kedua populasi WBC tersebut menunjukkan kemungkinan kaitan gen-gen tersebut dengan variasi virulensi WBC.

Analisis transkriptom *fat body* abdomen WBC menunjukkan adanya perbedaan level transkrip gen-gen yang terlibat dalam berbagai jalur lintas biologi antara populasi T dan M. Pada populasi M, level transkrip metabolisme karbohidrat, lipid, dan asam amino lebih tinggi dibanding dengan populasi T. Hal ini mungkin untuk mengompensasi kandungan total karbohidrat (terutama gula dapat larut) dan asam amino pada *sap* floem Mudgo yang lebih rendah dibanding dengan TN1. Jalur lintas metabolik berbagai asam amino (tirosin, arginin, dan prolin; biosintesis valin, leusin, dan isoleusin) lebih dominan pada populasi M dibanding dengan populasi T. Kandungan asam amino bebas diketahui lebih rendah pada varietas tahan dibanding dengan varietas rentan. Gen-gen yang berkaitan dengan respons kekebalan seluler dan humoral juga menunjukkan level transkrip yang lebih tinggi pada populasi M dibanding dengan populasi T. Diduga, pada varietas Mudgo terdapat substansi atau mikroorganisme yang dapat mengaktifkan respons kekebalan WBC populasi M sehingga populasi ini dapat beradaptasi pada Mudgo (Yu et al. 2014).

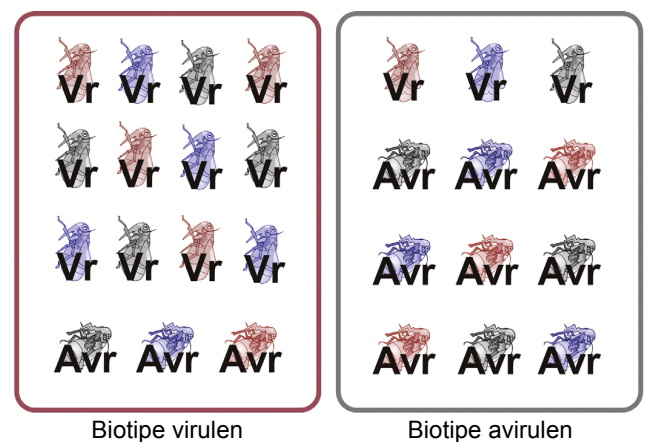
BIOTIPE WBC

Ada dua definisi istilah biotipe yang dianut untuk mengarakterisasi serangga hama (Claridge dan Den Hollander 1983). Definisi pertama bersifat umum, yaitu digunakan untuk mengelompokkan individu-individu atau populasi dalam sebuah spesies dengan kesamaan karakteristik biologi tertentu, seperti virulensi terhadap varietas inang diferensial tanpa diketahui basis genetiknya. Biotipe dalam konteks ini dianggap sinonim dengan 'ras' oleh sebagian peneliti, padahal 'ras' didefinisikan sebagai populasi atau sekelompok populasi dalam sebuah spesies yang dapat dibedakan satu sama lain secara morfologis, fisiologis, atau perilaku. Pada definisi kedua, istilah biotipe secara spesifik merujuk pada gen atau genotipe tertentu untuk virulensi (gen virulensi [*virulence gene*, *v gene*]) yang berkorespondensi dengan gen ketahanan (*resistance gene*, *R gene*) pada tanaman inang, atau yang lebih dikenal sebagai hubungan antargen (*gene-for-gene*, GFG).

Pada WBC, istilah biotipe digunakan untuk mendeskripsikan populasi yang memiliki kemampuan beradaptasi (makan dan bereproduksi) pada varietas

padi yang mengandung gen ketahanan spesifik terhadap WBC (Sogawa 1981). Secara morfologis, tidak ada perbedaan nyata antarbiotipe WBC, demikian pula dalam preferensi kawin dan penampilan kimiawi (Claridge dan Den Hollander 1980; Sogawa 1978 dalam Claridge et al. 1984). Akan tetapi, Saxena dan Rueda (1982) dalam Claridge et al. (1984) mengklaim dapat membedakan biotipe 1–3 berdasarkan >100 karakter morfologis pada imago, bentuk sayap imago, dan sitologi kromosom. Temuan ini tidak dapat dibuktikan oleh Claridge et al. (1984).

Populasi WBC lapangan bersifat *heterogenous* karena terdiri atas individu-individu dengan variasi virulensi. Derajat virulensi suatu populasi WBC ditentukan oleh proporsi individu-individu pembawa alel virulensi; suatu populasi dikatakan virulen jika proporsi individu virulen mendominasi (Kobayashi 2016) (Gambar 1). Karena derajat virulensi WBC bersifat kolektif, identifikasi biotipe WBC dilakukan dengan menginfestasikan nimfa secara massal pada sejumlah tanaman varietas diferensial (Tabel 1). Metode pengujian yang biasa digunakan adalah penapisan pada kotak benih (*standard seedbox screening test*), yaitu tanaman yang mengandung nimfa instar 2–3 diinfestasikan ke dalam kotak yang ditanami 20–5 bibit padi per varietas diferensial. Ketahanan tanaman dievaluasi berdasarkan nilai modus skor kerusakan tanaman pada skala 0–9 menurut sistem evaluasi baku dari IRRI (*standard evaluation system*, SES) (Brar et al. 2009). Sistem evaluasi SES yang dimodifikasi untuk skoring per tanaman secara akurat juga dapat digunakan (Chaerani et al. 2016). Penentuan kelompok biotipe didasarkan pada reaksi ketahanan empat varietas diferensial utama (TN1,



Gambar 1. Populasi biotipe wereng batang cokelat (WBC) mengandung campuran genotipe avirulen (Avr) dan virulen (Vr). Derajat virulensi populasi biotipe ditentukan oleh proporsi genotipe virulen (diadaptasi dari Kobayashi 2016).

Tabel 1. Hubungan antara gen ketahanan terhadap wereng batang coklat (WBC) pada padi (*brown planthopper genes, Bph*) dan biotipe WBC (Brar et al. 2009).

Varietas	Gen <i>Bph</i>	Reaksi ketahanan terhadap biotipe ^a			
		1	2	3	4
TN1	Tidak ada	T	R	T	R
Mudgo	<i>Bph1</i>	T	T	R	R
ASD7	<i>bph2</i>	T	T	T	T
Rathu Heenathi	<i>Bph3, Bph17^b</i>	T	T	T	T
PTB33 ^c	<i>bph2, Bph3</i>	T	T	T	T
Babawee	<i>bph4</i>	R	R	R	T
ARC 10550	<i>bph5</i>	R	R	R	T
Swarnalata	<i>Bph6</i>	R	R	R	T
T12	<i>bph7</i>	T	T	T	-
Chin Saba	<i>bph8</i>	T	T	T	-
Balamawee, Pokkali ^d	<i>Bph9</i>	R	R	R	R
<i>O. australiensis</i>	<i>Bph18</i>	T	T	T	T
<i>O. officinalis</i>	<i>Bph6, Bph13</i>	T	T	T	T
<i>O. minuta</i>	<i>Bph20, Bph21</i>	T	-	-	-
<i>O. latifolia</i>	<i>Bph12</i>	-	T	-	-

^aT = tahan (skor gejala kerusakan tanaman 0–5 menurut skala 0–9 *standard evaluation system* [SES] IRRI, R = rentan (skor gejala kerusakan tanaman >5).

^bSun et al. (2005).

^cBaehaki dan Munawar (2008); Oka dan Bahagiawati (1984).

^dJairin et al. (2006).

Mudgo, ASD7, dan Rathu Heenathi [*Bph3, Bph17*]), sedangkan reaksi varietas lainnya diabaikan karena biasanya tidak memenuhi kriteria yang telah ditetapkan. PTB33 (*bph2, Bph3*) juga sering digunakan sebagai varietas diferensial, tetapi sebenarnya tidak dapat dijadikan sebagai penentu biotipe karena konsistensi ketahanannya terhadap populasi lapangan bersifat temporal dan spasial (Baehaki dan Munawar 2008; Chaerani et al. 2016; Jairin et al. 2006; Oka dan Bahagiawati 1984). Metode penapisan pada kotak benih telah digunakan (Oka 1978) untuk memantau dan mengidentifikasi biotipe yang berkembang di lapangan di Indonesia. Preferensi inang dan pengukuran kuantitas ekskresi embun madu juga dapat digunakan untuk mengetahui biotipe WBC, tetapi jumlah individu yang diuji harus ≥ 10 ekor karena adanya variasi individual dalam satu populasi WBC (Claridge dan Den Hollander 1980; Sogawa 1981; Wada et al. 1994).

Biotipe baru yang lebih ganas dapat dibuat di laboratorium dengan mengadaptasikan suatu populasi WBC secara kontinu selama 33 generasi pada varietas tahan (Jing et al. 2012). Biotipe WBC dapat dikonversi ke biotipe lainnya dalam sepuluh generasi jika diseleksi pada varietas yang sesuai (Claridge dan Den Hollander 1982).

Penomoran biotipe dibatasi hingga 4 (Brar et al. 2009) atau 5 (Claridge dan Den Hollander 1980) karena penggunaan istilah biotipe masih diperdebatkan. Di Indonesia, di mana perkembangan virulensi WBC lapangan lebih cepat dibanding dengan negara-negara penanam padi lainnya di Asia (Chaerani et al.

2016), dahulu disepakati bahwa populasi lapangan yang menunjukkan perilaku virulensi tidak sesuai dengan biotipe 1–4 dinamai berdasarkan varietas yang telah dipatahkan ketahanannya, misalnya populasi IR42 SU (Deli Serdang) yang tidak sepenuhnya berperilaku seperti biotipe 3 (Baehaki 2012).

Jika hubungan GFG pada interaksi antara WBC dan padi diasumsikan berlaku, maka potensi jumlah biotipe mengikuti sistem eksponensial 2^n dengan n adalah jumlah gen ketahanan yang diuji (Diehl dan Bush 1984). Dengan mengikuti sistem ini, untuk empat gen *Bph* saja akan ada enam belas biotipe WBC, padahal interaksi GFG pada WBC-padi belum terbukti sepenuhnya. Pada lalat Hessian (*Mayetiola destructor*) yang interaksinya dengan tanaman gandum inangnya berbasis GFG, enam belas biotipe telah diidentifikasi (Ferrater 2015).

KERAGAAN GENETIK WBC

Jika perbedaan biotipe berbasis genetik, maka evolusi adaptasi virulensi akan memberikan jejak perbedaan jelas antarindividu di dalam populasi yang dapat diukur melalui analisis genetika populasi dengan membandingkan keragaan genotipik di dalam dan antarpopulasi (Wenger dan Michel 2013). Variasi *allozyme* menunjukkan bahwa keempat biotipe secara genetis berkerabat dekat (Saxena et al. 1991 dalam Kobayashi 2016). Kajian struktur genetik oleh Jing et al. (2012) menggunakan marka *simple sequence repeat* (SSR) menunjukkan bahwa ragam genetik antar empat biotipe hanya 25,5%. Meskipun

demikian, individu-individu dari keempat biotipe dapat dikelompokkan sesuai derajat virulensinya. Dengan menggunakan marka SSR, Chaerani et al. (2015) juga memperoleh hasil yang serupa, yaitu antar 13 populasi WBC, yang didominasi oleh populasi dengan virulensi lebih ganas dari biotipe 4, terdapat perbedaan ragam genetik sebesar 24%. Sisa ragam genetik disebabkan oleh antarindividu dalam populasi yang sama.

Adanya keragaman genetik individual di dalam suatu populasi memungkinkan terjadinya perubahan frekuensi alel yang berasosiasi dengan adaptasi inang melalui seleksi dan spesiasi simpatrik sehingga pada generasi berikutnya populasi ini bergeser menjadi lebih virulen (Diehl dan Bush, 1984; Jing et al. 2012; Kobayashi 2016; Kobayashi et al. 2014; Sogawa 1982). Tanpa tekanan seleksi dari tanaman tahan yang ditanam secara luas, individu-individu virulen mungkin akan berada dalam frekuensi rendah. Tanaka (1999) memprediksi bahwa dengan variasi genetik dan heritabilitas virulensi yang tinggi ($>0,40$), proporsi individu virulen dapat mencapai 50% setelah beberapa generasi diadaptasikan pada varietas yang sama.

MIKROORGANISME ENDOSIMBION

Sebagaimana serangga penusuk pengisap darah dan tanaman lainnya, WBC mengandung mikroba endosimbion di dalam tubuhnya (Noda et al. 1995; Xue et al. 2014). Simbiosis ini membantu serangga mendapatkan nutrisi, membantu perkembangan, reproduksi, dan pertahanan terhadap musuh alami (Chen et al. 2011; Dong et al. 2011; Tang et al. 2010). Endosimbion WBC terdiri atas jamur berfilamen atau khamir (*yeast-like symbiotes*, YLS) yang bersifat obligat dan bakteri obligat maupun fakultatif (Dong et al. 2011; Fan et al. 2015).

Yeast-like symbiotes disimpan secara intraseluler di dalam telur dan sel-sel *fat body* abdomen WBC dan ditransmisikan ke turunan berikutnya secara *transovarial* (Yukuhiro et al. 2014). Ada delapan genus dan spesies YLS yang dominan (Dong et al. 2011; Hou et al. 2013; Noda et al. 1995; Yu et al. 2014). Analisis transkriptom *fat body* WBC menemukan 317 unigen yang homolog dengan gen-gen dari 12 genus YLS dan bakteri *Wolbachia* (Yu et al. 2014). Sementara itu, tujuh genus dan 18 *operational taxonomic units* (OTUs) bakteri yang berasosiasi dengan berbagai populasi WBC telah diidentifikasi, namun belum diketahui manakah di antara bakteri tersebut yang obligat atau fakultatif (Tang et al. 2010; Wang et al. 2015).

Dari draf sekuen genom WBC sebesar 1,14 Gbp, sekuen berukuran 26,8 Mbp diidentifikasi merupakan genom YLS, sedangkan sekuen berukuran 2,96 Mbp adalah genom bakteri simbiosis yang secara tentatif dinamai *Arsenophonus nilaparvatae* (Xue et al. 2014). Hanya 40,8% dari >27.000 gen pengode protein pada genom WBC yang homolog dengan proteom dari 14 serangga. Anotasi fungsi gen-gen metabolik mengungkapkan adanya interaksi genomik yang komplementer antara WBC dengan endosimbionnya. Pertama, gen-gen pengode enzim pemecah pati hilang pada WBC tetapi ditemukan di dalam genom kedua mikroba endosimbionnya (Xue et al. 2014). Sebaliknya, gen-gen pengode enzim pemecah gula masih ada pada genom WBC; hal ini konsisten dengan sumber pakan WBC yang berupa sap floem kaya gula tetapi miskin pati. Kedua, WBC tidak mampu mensintesis 10 asam amino esensial secara *de novo*, namun genom YLS mengandung semua gen esensial untuk biosintesis asam amino. Ketiga, jalur lintas daur ulang nitrogen dan asimilasi amoniak bersifat saling melengkapi pada WBC dan YLS, di mana hanya ada satu gen yang sama pada kedua organisme. Keempat, dua gen yang menyediakan jalur lintas alternatif konversi ergosta menjadi ergosterol ditemukan pada genom WBC dan YLS. Ergosterol merupakan prekursor kolesterol dan hormon ganti kulit *ecdysone* dan merupakan komponen membran sel pada jamur dan *yeast* yang berperan sama seperti kolesterol pada sel hewan. Eliminasi YLS dari tubuh nimfa WBC dapat menggagalkan perkembangan nimfa menjadi dewasa. Kelima, genom WBC dan YLS keduanya defisien gen-gen yang terlibat dalam jalur lintas biosintesis beberapa vitamin, tetapi genom *A. nilaparvatae* mengandung set gen fungsional lengkap untuk sintesis vitamin B. WBC yang tidak mengandung *A. nilaparvatae* diketahui selalu mengandung bakteri *Wolbachia*, yang telah diketahui menyediakan vitamin B untuk kumbang *Cimex lectularius* yang merupakan serangga inangnya.

Penelitian terhadap WBC aposimbiotik, yaitu WBC yang telah dieliminasi kandungan YLS-nya dengan pemanasan telur pada 35°C, membuktikan peran penting YLS terhadap keberlangsungan hidup WBC. WBC biotipe 1–3 aposimbiotik memiliki daya bertahan nimfa yang lebih rendah, durasi perkembangan nimfa lebih panjang, fekunditas betina lebih rendah, ataupun aktivitas transaminase yang lebih rendah dibanding dengan WBC simbiotik, baik pada TN1 maupun varietas tahan (Lu et al. 2004). Pada penelitian menggunakan pakan buatan yang mengandung berbagai konsentrasi asam amino, nimfa aposimbiotik tidak dapat menjadi dewasa (Hongoh

dan Ishikawa 1997). Kepadatan populasi YLS dalam populasi WBC lapangan berkorelasi positif dengan virulensi (Lu et al. 2004). Analisis transkriptom menunjukkan bahwa level mRNA 57 gen yang homolog dengan gen-gen yang terlibat dalam transpor protein pada lima genus YLS lebih tinggi pada populasi M dibanding dengan populasi T (Yu et al. 2014).

Di pihak lain, Chen et al. (2011) mengamati bahwa penampilan nimfa aposimbiotik justru menjadi lebih baik pada generasi ke-11 setelah dipindahkan dari TN1 ke Mudgo dan ASD7. Kandungan asam amino total dan yang langka meningkat pada nimfa aposimbiotik dan lebih tinggi dibanding dengan nimfa simbiotik pada generasi ke-8, namun asam amino yang umum menurun. Kepadatan populasi YLS antarpopulasi WBC yang diseleksi pada varietas-varietas dengan perbedaan ketahanan dilaporkan tidak berbeda nyata (Chen 2009) ataupun tidak berkorelasi positif dengan tingkat ketahanan varietas (Ferrater 2015) sehingga perubahan kepadatan populasi YLS tidak dapat dikaitkan dengan virulensi.

Temuan-temuan yang bertentangan tersebut menunjukkan bahwa YLS memiliki signifikansi fungsional yang rendah ketika varietas dan kondisi lingkungan (varietas) antargenerasi bersifat konstan. Simbiosis menguntungkan WBC hanya pada generasi awal untuk mengatasi perubahan lingkungan (varietas), tetapi pada generasi berikutnya, pada saat WBC mulai beradaptasi, YLS kurang berperan (Chen et al. 2011; Ferrater 2015).

Antarbiotipe dilaporkan terdapat perbedaan komposisi dan kelimpahan bakteri simbiosis: pada biotipe 3 ditemukan 13 OTU, sedangkan pada biotipe 1 dan 2 berturut-turut 6 OTU dan 4 OTU. Tiap biotipe juga memiliki OTU unik: OTU 1 hanya ada pada biotipe 1, OTU 2 pada biotipe 2, dan *Wolbachia* dan beberapa OTU lainnya hanya ada pada biotipe 3. OTU 1 pada serangga lain dapat memanipulasi reproduksi dan kematian keturunan individu jantan, sedangkan OTU 2 (*Asia*) pada nyamuk *Anopheles stephensi* dan wereng daun *Scaphoideus titanus* diduga menyediakan fungsi metabolik yang membantu adaptasi serangga pada varietas tahan. OTU 2 hanya terdeteksi pada selubung ovipositor biotipe 2, sehingga OTU2 diduga membantu fungsi metabolik untuk adaptasi pada varietas Mudgo (Tang et al. 2010).

Kepadatan populasi bakteri tidak terlalu berkorelasi dengan daya adaptasi WBC pada varietas tahan, di mana peningkatan kepadatan populasi *Serratia*, *Arsenophonus*, *Acinetobacter* atau *Arthrobacter* hanya bertahan sampai dua generasi setelah populasi T dipindahkan ke Mudgo atau populasi WBC asal ASD7 dipindahkan ke Mudgo (Xu et al. 2015).

Sebaliknya, kepadatan populasi *Arsenophonus* pada semua populasi WBC, baik yang dipelihara pada TN1 maupun Mudgo dan ASD7, meningkat setelah dipelihara >15 generasi, sedangkan kepadatan populasi *Wolbachia* menurun jika WBC dipelihara selama beberapa generasi pada varietas tunggal (Wang et al. 2015).

Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kelimpahan ataupun keragaman bakteri tidak berpengaruh terhadap peningkatan virulensi WBC. Walaupun demikian, adanya peningkatan level mRNA 20 gen esensial *Wolbachia* untuk proses-proses sel (perakitan ribosomal dan pembelahan sel) dari populasi M mengindikasikan adanya aktivitas perkembangbiakan bakteri ini pada populasi M. Aktivitas biosintesis *de novo* metabolisme kofaktor dan protein, serta transpor pada populasi M juga meningkat dibanding dengan populasi T (Yu et al. 2014). Pada kutu daun dan kutu kebul bakteri endosimbion telah diketahui berperan dalam pembentukan biotipe atau populasi yang virulen (Tang et al. 2010). Peran bakteri simbiosis sebagai penentu virulensi pada WBC masih perlu diklarifikasi lebih lanjut dengan membandingkan daya adaptasi WBC aposimbiotik bakteri dengan WBC simbiotik pada varietas diferensial selama beberapa generasi.

ANALISIS DAN PEMETAAN GENETIKA VIRULENSI WBC

Model pewarisan sifat virulensi WBC perlu dipelajari untuk memahami basis genetik perilaku dan fisiologi WBC yang berasosiasi dengan adaptasi inang (Kobayashi 2016). Genetika virulensi WBC telah dipelajari melalui persilangan antarbiotipe dan pengamatan karakter virulensi progeni berdasarkan preferensi inang, kerusakan tanaman, perkembangan nimfa, keperidian, ataupun kemampuan makan yang diukur dari ekskresi embun madu (Cheng 1985; Cheng dan Chang 1979 dalam Sogawa 1981; Hollander dan Pathak 1981 dalam Kobayashi 2016; IRRI 1978 dalam Sogawa 1981; Saxena dan Barrion 1983; Tanaka 1999). Pada generasi F₁, virulensi biotipe 2 terhadap *Bph1* bersifat resesif, sedangkan biotipe 3 terhadap *bph2* resesif, dominan, ataupun dominan parsial (*incomplete dominant*), tergantung pada karakter virulensi yang diamati dan skema persilangan (Tabel 2). Segregasi virulensi pada populasi F₂ atau silang balik (*backcross*, BC) bersifat kontinu sehingga disimpulkan bahwa virulensi WBC dikendalikan oleh banyak gen. Namun demikian, Tanaka (1999) menunjukkan bahwa distribusi ekskresi embun madu pada nilai terekstrim (<10 mg

Tabel 2. Analisis genetika virulensi WBC.

Biotipe/populasi WBC	Gen ketahanan padi	Asal tetua WBC	Persilangan dan populasi	Uji virulensi	Kendali genetik	Pustaka
1	Tidak ada	Grup	Biotipe 1 × 2	Daya bertahan nimfa	Dominan	IRRI (1978) dalam Sogawa (1981)
3			Biotipe 1 × 3		Dominan	
2	<i>Bph1</i>	Grup	Biotipe 2 × 3 Biotipe 1 × 2 dan Biotipe 2 × 1 (F ₁)	Skor kerusakan tanaman (F ₁)	Dominan Resesif	Cheng dan Chang (1979) dalam Sogawa (1981)
3	<i>bph2</i>		Biotipe 1 × 3 dan Biotipe 3 × 1 (F ₁)		Dominan	
1	Tidak ada	Grup	-a	Kemampuan makan	Poligenik	Den Hollander dan Pathak (1981) dalam Kobayashi (2016)
2	<i>Bph1</i>	Individual	-a	Daya bertahan dan kemampuan makan (ekskresi embun madu)	Resesif (F ₁)	Ito dan Kisimoto (1981) dalam Kobayashi (2016)
3	<i>bph2</i>	Individual	-a	Daya bertahan dan kemampuan makan (ekskresi embun madu)	Resesif (F ₁)	
2	<i>Bph1</i>	Grup	F ₁ , F ₂	Kemampuan makan (ekskresi embun madu)	Poligenik, resesif	Sogawa (1981)
3	<i>bph2</i>	Grup	F ₁ Biotipe 1 × 3 (F ₁ , F ₂ , BC) Biotipe 1 × 3 (F ₁ , F ₂)	Perkembangan nimfa Preferensi inang dan kemampuan makan (ekskresi embun madu) Perkembangan nimfa	Poligenik, resesif Poligenik, resesif	
			Biotipe 1 × 3 (BC)		Poligenik, dominan parsial (<i>incomplete dominant</i>) Poligenik, virulensi mengarah ke 'biotipe 3'	
	<i>Bph1, bph2</i>	Grup	Biotipe 2 × 3 (F ₁)	Preferensi inang, kemampuan makan Perkembangan nimfa	Poligenik, resesif Poligenik, virulensi seperti 'biotipe 2' atau '3' tergantung varietas inang	
2	<i>Bph1</i>	Grup	Biotipe 1 × 2 (F ₁ , F ₂ , BC)	Daya bertahan	Poligenik, resesif	Cheng (1985)
	<i>bph2</i>	Grup	Biotipe 2 × 3 (F ₁ , F ₂ , BC)		Poligenik, resesif	
1	<i>bph2</i>	Grup	Biotipe 1 × 3 (F ₁ , F ₂ , BC)		Poligenik, dominan parsial (<i>incomplete dominant</i>)	
Virulen terhadap <i>Bph1</i>	<i>Bph1</i>	Grup	Populasi avirulen × virulen terhadap <i>Bph1</i>	Kemampuan makan (ekskresi embun madu)	Poligenik	Tanaka (1999)
2	<i>Bph1</i>	Individual (hasil <i>full-sib inbred</i> selama 13 generasi)	Biotipe 1 × 2 (F ₁)	Preferensi inang	Mayor (satu QTL)	Jing et al. (2014)
			Biotipe 2 × 1 (F ₂) Biotipe 2 × 1 (F ₁)	Laju pertumbuhan Preferensi inang	Mayor (satu QTL) Mayor (satu QTL)	
Virulen terhadap <i>Bph1</i>	<i>Bph1</i>	Individual (hasil <i>full-sib inbred</i> selama 3 generasi)	Populasi avirulen × virulen terhadap <i>Bph1</i>	Kemampuan makan (ekskresi embun madu)	Mayor (satu gen), resesif	Kobayashi et al. (2014)

^atidak ada data.

dan >20 mg/48 jam) bersifat bimodal sehingga virulensi WBC dapat dikelompokkan ke dalam dua fenotipe diskrit, yaitu avirulen dan virulen.

Persilangan resiprokal biotipe 1 × 2, biotipe 2 × 3, dan biotipe 1 × 3 menunjukkan bahwa pewarisan sifat virulensi yang diukur berdasarkan laju bertahan nimfa tidak terpaut dengan jenis kelamin (*sex-linked*) (Cheng 1985). Akan tetapi, Liu et al. (2005) yang juga melakukan persilangan resiprok dan mengamati virulensi berdasarkan ekskresi embun madu dan perubahan bobot tubuh melaporkan hal sebaliknya.

Fakta bahwa ketahanan padi terhadap WBC dikendalikan secara monogenik dan diwariskan secara sederhana tidak sejalan dengan temuan bahwa virulensi WBC dikendalikan secara poligenik dan diwariskan secara kuantitatif. Hubungan GFG banyak dideskripsikan pada interaksi antara patogen dan tanaman, sedangkan pada serangga dilaporkan terdapat pada lalat Hessian pada gandum (Aggarwal et al. 2014; Zhao et al. 2016) dan hama ganjur pada padi (Bentur et al. 2016).

Analisis genetik terbaru menunjukkan bahwa virulensi WBC terhadap *Bph1* ternyata dikendalikan secara monogenik (Jing et al. 2014; Kobayashi et al. 2014) (Tabel 3). Perbedaan kesimpulan modus pewarisan sifat virulensi dengan penelitian terdahulu adalah cara pemurnian populasi yang dianalisis. Kedua penelitian ini menggunakan populasi tetua *inbred*, yaitu sepasang imago dikawinkan secara terkontrol (*full-sib mating*) pada tiap generasi selama 3–14 generasi untuk membentuk populasi *homogeneous*. Pada penelitian sebelumnya, populasi biotipe dibiakkan secara kontinu pada varietas yang sesuai dan dibiarkan kawin bebas antarindividu (*open mating*) sehingga terdapat heterogenitas genetik yang menyumbang pada distribusi fenotipe virulensi yang kontinu (Kobayashi et al. 2014).

Pemetaan genetik gen virulensi terhadap *Bph1* dengan bantuan marka molekuler telah mengidentifikasi empat gen/QTL mayor dan besar pengaruhnya (*magnitude*) terhadap kemampuan WBC dalam mengatasi ketahanan padi. Tiga QTL pengendali preferensi inang dan laju pertumbuhan serangga dengan ragam fenotipik yang dapat dijelaskan (*phenotypic variance explained*, PVE) sebesar 18–54% telah dipetakan pada tiga kelompok pautan marka (Jing et al. 2014) (Tabel 3). Sementara itu, Kobayashi et al. (2014) memetakan satu QTL mayor pengendali kemampuan makan dengan PVE sebesar 57–84%. QTL yang diwariskan secara resesif ini kemudian dinamai gen *vBph1* (Tabel 3). Perbedaan jumlah gen virulensi yang teridentifikasi pada kedua penelitian dapat diakibatkan oleh perbedaan mekanisme virulensi yang dideteksi dan lama generasi adaptasi tetua *inbred* pada varietas inangnya masing-masing (Kobayashi 2016). Tipe marka molekuler yang digunakan pada kedua penelitian berbeda sehingga tidak diketahui apakah keempat QTL/gen berada pada kelompok kromosom yang sama. Hingga kini, penomoran kromosom belum dilakukan karena belum ada penelitian kariotipe WBC.

Teridentifikasinya gen mayor virulensi WBC mengindikasikan adanya hubungan GFG dalam interaksi antara padi dan WBC. Dari 29 gen *Bph* yang telah dipetakan pada kromosom padi, 13 gen di antaranya telah diklon dan dikarakterisasi. Gen *Bph14*, *Bph26*, *Bph18*, dan *Bph9* mengode protein *coiled-coil*, *nucleotide-binding-site*, and *leucine-rich repeat* (CC-NBS-LRR) dari keluarga NBS-LRR. Gen pengode protein NBS-LRR banyak ditemukan pada interaksi GFG antara patogen dan tanaman sehingga terdapat kemiripan mekanisme molekuler ketahanan padi terhadap WBC dengan patogen padi. Gen-gen lainnya, seperti *Bph15* dan *Bph3*, mengode *lectin receptor kinase* (LecRK), *bph29* mengode protein yang mengandung domain B3 *DNA-binding*, dan *Bph32* mengode protein yang mengandung domain SCR yang belum diketahui. Protein-protein ini mungkin berfungsi sebagai reseptor kekebalan ketika mendeteksi protein efektor yang dikode oleh gen virulensi. Strategi efektor digunakan oleh banyak gen virulensi patogen dan serangga. Contoh gen virulensi yang diklon dari serangga adalah gen *vH13*, *vH6*, dan *vH9* dari lalat Hessian yang mengode protein modular untuk mengatasi kekebalan tanaman dan memodifikasi biokimia sel dan perkembangan tanaman, serta beberapa protein efektor yang berkaitan dengan virulensi pada kutu daun (Jing et al. 2017). Pada WBC, belum ada gen virulensi yang diklon sehingga strategi adaptasi virulensi pada level molekuler belum diketahui.

STRATEGI PENGHAMBATAN LAJU ADAPTASI VIRULENSI WBC

Dengan plastisitas genetik yang tinggi dan sebaran yang luas, WBC mengancam kelestarian ketahanan padi di lapang. Populasi WBC lapangan bersifat *heterogeneous* dengan karakter virulensi yang bervariasi antarindividu. Populasi yang awalnya ber-virulensi rendah terhadap varietas tahan dapat menjadi virulen ketika terseleksi secara terus menerus

Tabel 3. Gen/QTL virulensi WBC.

Populasi pemetaan dan <i>n</i> individu	Tipe marka molekuler	Mekanisme virulensi	Nama gen/QTL dan kelompok pautan marka (LG) ^a	Marka pengapit dan interval/ marka terdekat	Variasi fenotipik yang dapat dijelaskan	Aksi gen/QTL	Pustaka
F ₂ 'biotipe 2'×'1' (106)	SSR, SRAP	Laju pertumbuhan	<i>Qgr5</i> (LG5)	NLGS859–NLGS13 (0,3 cM)	18%		Jing et al. (2014)
F ₁ 'biotipe 1'×'2' (154)		Preferensi inang	<i>Qgr14</i> (LG14)	NLGS72–SRAP604–4 (1,1 cM)	24%		
F ₁ (51) ^b		Preferensi inang	<i>Qhp7</i> (LG7)	BM596–BM1444 (0,1 cM)	54%		Kobayashi et al. (2014)
F ₂ (28) ^b		Kemampuan makan (ekskresi embun madu)	<i>vBph1</i> (LG10)	VLS18–VLS05 (1,8 cM)/S001204 ^b	57–84%	resesif	
F ₂ (54) ^b							

^aLG = *linkage group*

^bPersilangan antara populasi WBC avirulen dan virulen terhadap gen *Bph1*.

pada varietas yang sama (Cheng 1985). Oleh karena itu, penanaman varietas tahan dengan gen ketahanan tunggal secara monokultur dalam wilayah luas dan terus menerus harus dihindari. Pendekatan pelepasan tanaman yang mengandung gen ketahanan (*gene deployment*) secara spasial dan temporal yang dianjurkan untuk mengelola patogen tanaman guna mencapai durabilitas ketahanan tanaman (Adugna 2004) dapat diadopsi untuk mengelola adaptasi virulensi WBC.

Strategi pelepasan tanaman padi dengan gen *Bph* secara spasial meliputi (1) penanaman beberapa varietas dengan genotipe ketahanan berbeda (*variety mixture*) dan (2) penanaman campuran galur-galur murni yang secara fenotipik mirip, namun mengandung gen *Bph* yang berbeda (*multiline varieties*). Kelemahan penanaman campuran varietas dibanding dengan penanaman *multiline varieties* adalah sulitnya mencari kombinasi varietas yang penampilan agronomiknya seragam. Percobaan semi lapang oleh Nemoto et al. (1994) menemukan bahwa campuran 2–3 galur tahan dapat memperlambat adaptasi virulensi, walaupun pada akhirnya WBC mampu beradaptasi setelah 9 generasi, sedangkan pada galur tahan yang ditanam secara monokultur, WBC beradaptasi hanya dalam 5 generasi setelah diseleksi.

Secara temporal, strategi pelepasan padi dengan gen *Bph* meliputi (1) penanaman varietas-varietas yang mengandung gen ketahanan tunggal secara berurutan sesuai dengan urutan derajat ketahanan hingga virulensi populasi WBC mampu beradaptasi, dan (2) pergiliran tanam berbagai varietas tahan. Strategi pertama pernah dilakukan di Filipina, Indonesia, dan beberapa negara Asia lainnya, namun memicu timbulnya biotipe baru dalam 2–3 tahun. Varietas-varietas yang mengandung *Bph1* (IR26, IR28, IR29, dan IR30) ditanam pada tahun 1973–1976, kemudian diganti dengan varietas mengandung gen *bph2* (IR32, IR36, dan IR38) segera setelah timbul biotipe 2. Varietas IR56 dan IR60 dengan gen *Bph3* dilepas pada tahun 1982 setelah biotipe 3 berkembang pada tahun 1980. Selanjutnya, IR66 dengan gen *bph4* dilepas pada tahun 1987, kemudian IR68, IR70, dan IR72 (ketiganya mengandung *Bph3*) dilepas pada tahun 1988 (Brar et al. 2009). Percobaan lapang membuktikan bahwa pergiliran populasi WBC setiap empat generasi pada varietas dengan gen ketahanan berbeda mengakibatkan fluktuasi laju daya bertahan WBC, yaitu rendah pada generasi pertama dan kedua, kemudian meningkat pada generasi ketiga dan keempat, tetapi menurun kembali jika ditransfer ke varietas yang mengandung gen ketahanan lain (Cheng 1985).

Alternatif dari *multilines* adalah perakitan varietas dengan akumulasi gen-gen ketahanan mayor (*gene pyramiding*) dalam satu varietas dan penanaman varietas mengandung gen mayor dan minor. Galur-galur padi yang mengandung piramida gen ketahanan *Bph* masih dalam tahap pengembangan. Contohnya, galur yang mengandung *Bph1* dan *bph2* (Sharma et al. 2004), *Bph6* dan *Bph12* (Qiu et al. 2012), *Bph14* dan *Bph15* (Hu et al. 2012), *Bph14*, *Bph15*, dan *Bph18* (Hu et al. 2013), dan *Bph3* dan *Bph27(t)* (Liu et al. 2016) menunjukkan ketahanan antibiosis, *antixenosis*, ataupun toleransi yang lebih tinggi dibanding dengan gen *Bph* tunggal. Galur pemulih dengan toleransi terhadap tiga hama sekaligus (WBC, penggerek batang, dan penggulung daun) dan herbisida glufosinat dengan akumulasi *Bph14* dan *Bph15*, gen *Cry1C*, dan gen *bar* telah dikembangkan oleh Wan et al. (2014). Penanaman IR64 yang mengandung gen mayor *Bph1* dan gen-gen minor/QTL berhasil memperlambat pergeseran biotipe 3 ke biotipe 4 selama 24 tahun di Indonesia (Baehaki 2012). Kombinasi gen-gen ini memberi efek ketahanan *antixenosis* serta antibiosis sehingga mampu menghambat adaptasi WBC lapangan (Alam dan Cohen 1998; Cohen et al. 1997). Untuk kawasan tropis, varietas yang mengandung gen mayor dan minor/QTL dianggap lebih sesuai untuk mencapai ketahanan durabel karena memberikan tekanan seleksi lebih rendah terhadap WBC populasi lapangan dibanding dengan varietas dengan ketahanan tinggi. Sebaliknya, varietas dengan ketahanan tinggi yang diperoleh melalui akumulasi gen atau rekayasa genetik lebih cocok untuk kawasan Asia *temperate* di mana ledakan WBC disebabkan oleh WBC yang bermigrasi dari Asia tropis (Cohen et al. 1997). Hingga saat ini, belum ada varietas padi yang mengandung kombinasi gen mayor dan minor/QTL pengganti IR64 yang dapat mengatasi virulensi WBC yang sedang berkembang di lapang. Pengelolaan WBC secara lestari dapat dicapai dengan penanaman varietas seperti IR64 dikombinasikan dengan pengendalian hayati (Way 1994).

KESIMPULAN

WBC adalah serangga yang mampu beradaptasi pada varietas padi tahan menjadi populasi lebih virulen. Penggunaan istilah 'biotipe' untuk mendeskripsikan variasi virulensi antarpopulasi WBC masih dipermasalahan karena adanya variasi virulensi dan genetik antarindividu dalam satu populasi. Pada populasi WBC yang lebih virulen, terdapat peningkatan ekspresi gen-gen yang berkaitan dengan pencernaan; sekresi saliva, detoksifikasi; metabolisme

karbohidrat, lipid, dan asam amino; jalur penyinyalan respons pertahanan, respons terhadap cekaman, dan respons kekebalan pada populasi. Secara genomik, terdapat interaksi komplementer antar-WBC dengan mikroorganisme endosimbiotiknya, yaitu endosimbion dapat menjadi perantara adaptasi WBC pada varietas tahan, namun kepadatan populasinya bukan penentu virulensi WBC. Analisis persilangan antarpopulasi *inbred* mengungkapkan bahwa virulensi WBC terhadap gen ketahanan *Bph1* ternyata dikendalikan secara monogenik, bertolak belakang dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya. Untuk menghambat evolusi adaptasi virulensi WBC ke arah yang lebih ganas, disarankan untuk menghindari penanaman varietas tahan secara monokultur dan terus menerus dan menanam varietas yang mengandung gen mayor dan minor/QTL agar terjadi tekanan seleksi yang lebih rendah terhadap WBC lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penghargaan sebesar-besarnya saya sampaikan kepada Dr. Sutrisno dan Prof. (Riset). Bahagiawati atas bimbingan dalam penelitian WBC. Dana penelitian diperoleh dari DIPA BB Biogen 2013–2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Adugna, A. (2004) Alternate approaches in deploying genes for disease resistance in crop plants. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3 (5), 618–623.
- Aggarwal, R., Subramanyam, S., Zhao, C., Chen, M.S. & Harris, M.O. (2014) Avirulence effector discovery in a plant gall and plant parasitic arthropod, the Hessian fly (*Mayetiola destructor*). *PLoS One*, 9 (6), e100958. doi: 10.1371/journal.pone.0100958.
- Alam, S.N. & Cohen, M.B. (1998) Detection and analysis of QTLs for resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, in a doubled-haploid rice population. *Theoretical and Applied Genetics*, 97 (8), 1370–1379.
- Baehaki, S.E. (2012) Perkembangan biotipe hama wereng cokelat pada tanaman padi. *IPTEK Tanaman Pangan*, 7 (1), 8–17.
- Baehaki, S.E. & Munawar, D. (2008) Identifikasi biotipe wereng cokelat di Jawa, Sumatera, dan Sulawesi dan reaksi ketahanan kultivar padi. Dalam: Suprihatno, B. Daradjat, A.A., Suharto, H., Toha, H.M., Setiyono, A., Suprihanto & Yahya, A.S. (editor) *Prosiding Seminar Apresiasi Hasil Penelitian Padi Menunjang P2BN*. Sukamandi, Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, hlm. 351–366.
- Bentur, J.S., Rawat, N., Divya, D., Sinha, D.K., Aggarwal, R., Atray, I. & Nair, S. (2016) Rice-gall midge interactions: Battle for survival. *Journal of Insect Physiology*, 84, 40–49.
- Brar, D.S., Virk, P.S., Jena, K.K. & Khush, G.S. (2009) Breeding for resistance to planthoppers in rice. In: Heong, K.L. & Hardy, B. (eds.) *Planthoppers: New threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia*. Philippines, International Rice Research Institute. pp. 401–428.
- Chaerani, Damayanti, D., Trisnarningsih, Yuriyah, S., Kusumanegara, K., Dadang, A., Sutrisno & Bahagiawati. (2016) Virulence of brown planthopper and development of core collection of the pest. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 35 (2), 109–118.
- Chaerani, Yuriyah, S., Dadang, A., Damayanti, D., Kusumanegara, K., Trisnarningsih, Bahagiawati & Sutrisno. (2015) Karakterisasi virulensi dan molekuler wereng batang cokelat (*Nilaparvata lugens* [Stål]). Dalam: Abdulrachman, S., Nuryanto, B., Rahmini, Usyati, N., Sudir, Widyantoro, Pratiwi, G.R., Ruskandar, A., Kusbiantoro, B., Handoko, D.D. et al. (editor) *Prosiding Seminar Nasional 2014 Buku 1*. Sukamandi, Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, hlm. 371–382.
- Chen, Y.H. (2009) Variation in planthopper-rice interactions: Possible interactions among three species? In: Heong, K.L. & Hardy, B. (eds.) *Planthoppers: New threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia*. Philippines, International Rice Research Institute, pp. 315–326.
- Chen, Y.H., Bernal, C.C., Tan, J., Horgan, F.G. & Fitzgerald, M.A. (2011) Planthopper “adaptation” to resistant rice varieties: Changes in amino acid composition over time. *Journal of Insect Physiology*, 57, 1375–1384.
- Cheng, C.H. (1985) Interaction between biotypes of the brown planthopper and rice varieties. *Journal of Agricultural Research China*, 34 (3), 299–314.
- Cheng, X., Zhu, L. & He, G. (2013) Towards understanding of molecular interactions between rice and the brown planthopper. *Molecular Plant Pathology*, 6 (3), 621–634.
- Claridge, M.F. & Den Hollander, J. (1980) The “biotypes” of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, 27, 23–30.
- Claridge, M.F. & Den Hollander, J. (1982) Virulence to rice cultivars and selection for virulence in populations of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 32, 213–221.
- Claridge, M.F. & Den Hollander, J. (1983) The biotype concept and its application to insect pests of agriculture. *Crop Protection*, 2 (1), 85–95.

- Claridge, M.F., Den Hollander, J. & Haslam, D. (1984) The significance of morphometric and fecundity differences between the 'biotypes' of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 36, 104–114.
- Claridge, M.F., Den Hollander, J. & Morgan, J.C. (1985) The status of weed-associated populations of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)–host, race or biological species? *Zoological Journal of the Linnean Society*, 84, 77–90.
- Cohen, M.B., Alam, S.N., Medina, E.B. & Bernal, C.C. (1997) Brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resistance in rice cultivar IR64: Mechanism and role in successful N-lugens management in Central Luzon, Philippines. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85, 221–229.
- Diehl, S.R. & Bush, G.L. (1984) An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology*, 29, 471–504.
- Dong, S.Z., Pang, K., Bai, X., Yu, X.P. & Hao, P.Y. (2011) Identification of two species of yeast-like symbiotes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Current Microbiology*, 62, 1133–1138.
- Fan, H.W., Noda, H., Xie, H.Q., Suetsugu, Y., Zhu, Q.H. & Zhang, C.X. (2015) Genomic analysis of an ascomycete fungus from the rice planthopper reveals how it adapts to an endosymbiotic lifestyle. *Genome Biology and Evolution*, 7 (9), 2623–2634.
- Ferrater, J.B. (2015) *Adaptation of the brown planthopper, Nilaparvata lugens* (Stål), to the resistant rice varieties. Ph.D. Dissertation, Wageningen University.
- Hongoh, Y. & Ishikawa, H. (1997) Uric acid as a nitrogen resource for the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*: Studies with synthetic diets and aposymbiotic insects. *Zoological Science*, 14, 581–586.
- Hou, Y., Ma, Z., Dong, S., Chen, Y.H. & Yu, X. (2013) Analysis of yeast-like symbiote diversity in the brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* Stål, using a novel nested PCR-DGGE protocol. *Current Microbiology*, 67 (3), 263–270.
- Hu, J., Cheng, M.X., Gao, G.J., Zhang, Q.L. Xiao, J.H. & He, Y.Q. (2013) Pyramiding and evaluation of three dominant brown planthopper resistance genes in the elite *indica* rice 9311 and its hybrids. *Pest Management Science*, 69, 802–808.
- Hu, J., Li, X., Wu, C., Hua, H., Gao, G., Xiao, J. & He, Y. (2012) Pyramiding and evaluation of the brown planthopper resistance genes *Bph14* and *Bph15* in hybrid rice. *Molecular Breeding*, 29 (1), 61–69.
- Jairin, J., Phengrath, K., Teangdeerith, S., Vanavichit, A. & Toojinda, T. (2006) Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. *Molecular Breeding*, 19, 35–44.
- Ji, R., Yu, H., Fu, Q., Chen, H., Ye, W., Li, S. & Lou, Y. (2013) Comparative transcriptome analysis of salivary glands of two populations of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, that differ in virulence. *PLoS One*, 8 (11), e79612. doi: 10.1371/journal.pone.0079612.
- Jing, S., Liu, B., Peng, L., Zhu, L., Fu, Q. & He, G. (2012) Development and use of EST-SSR markers for assessing genetic diversity in the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål). *Bulletin of Entomological Research*, 102 (1), 113–122. Doi:10.1017/S0007-485311000435.
- Jing, S., Zhang, L., Ma, Y., Liu, B., Zhao, Y., Yu, H., Zhou, X., Qin, R., Zhu, L. & He, G. (2014) Genome-wide mapping of virulence in brown planthopper identifies loci that break down host plant resistance. *PLoS One*, 9 (6), e98911. doi: 10.1371/journal.pone.0098911.
- Jing, S., Zhao, Y., Du, B., Chen, R., Zhu, L. & He, G. (2017) Genomics of interaction between the brown planthopper and rice. *Current Opinion in Insect Science*, 19, 82–87.
- Kobayashi, T. (2016) Evolving ideas about genetics underlying insect virulence to plant resistance in rice-brown planthopper interactions. *Journal of Insect Physiology*, 84, 32–39.
- Kobayashi, T., Yamamoto, K., Yoshitaka, S., Kuwazaki, S., Hattori, M., Jairin, J., Sanada-Morimura, S. & Matsumura, M. (2014) Genetic mapping of the rice resistance-breaking gene of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. In: Alonzo, H.S., Carvalho, R.G., Cuthill, C.I. & A.P.H. (eds.) *Proceedings of the Royal Society B*, 281 (1787), 20140726.
- Latif, M.A., Guan, T.S., Yusoh, O.M. & Siraj, S.S. (2008) Evidence of sibling species in the brown planthopper complex (*Nilaparvata lugens*) detected from short and long primer random amplified polymorphic DNA fingerprints. *Biochemical Genetics*, 46, 520–537.
- Liu, F., Fu, Q., Lai, F.X. & Zhang, Z.T. (2005) A linkage between inheritance of virulence and sex in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). *Acta Entomologica Sinica*, 48 (6), 892–897.
- Liu, Y., Chen, L., Liu, Y., Dai, H., He, J., Kang, H., Pan, G., Huang, J., Qiu, Z., Wang, Q. et al. (2016) Marker assisted pyramiding of two brown planthopper resistance genes, *Bph3* and *Bph27* (t), into elite rice cultivars. *Rice*, 9 (1), 27.
- Lu, Z.X., Yu, X.P., Chen, J.M., Zheng, X.S., Xu, H.X., Zhang, J.F. & Chen, L.Z. (2004) Dynamics of yeast-like symbiote and its relationship with the virulence of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål, to resistant rice varieties. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 7 (3), 317–323.
- Mochida, O. & Okada, T. (1979). Taxonomy and biology of *Nilaparvata lugens* (Hom. Delphacidae). *Brown planthopper: Threat to rice production in Asia*. Philippines, International Rice Research Institute, pp. 21–43.

- Nemoto, H. & Yokoo, M. (1994) Experimental selection of a brown planthopper population on mixtures of resistant rice lines. *Breeding Science*, 44, 133–136.
- Noda, H. & R. Tatewaki. (1990). Reexamination of chromosomes of three species of rice planthoppers (Homoptera, Delphacidae). *Applied Entomology and Zoology*, 25, 538–540.
- Noda, H., Nakashima, N. & Koizumi, M. (1995) Phylogenetic position of yeast-like symbiotes of rice planthoppers based on partial 18S rDNA sequences. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25 (5), 639–646.
- Oka, I.N. (1978) Quick method for identifying brown planthopper biotypes in the field. *International Rice Research Newsletter*, 3 (6), 11–12.
- Oka, I.N. & Bahagiawati, A.H. (1984) Development and management of a new brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) biotype in North Sumatera, Indonesia. *Contribution Central Research Institute for Food Crops*, 71, 1–14.
- Pathak, M.D. & Khan, Z.R. (1994) *Insect pests of rice*. Philippines, International Rice Research Institute.
- Pathak, P.K. & Heinrichs, E.A. (1982) Selection of biotype population 2 and population 3 of *Nilaparvata lugens* (Homoptera, Delphacidae) by exposure to resistant rice varieties. *Environmental Entomology*, 11, 85–90.
- Qiu, Y., Guo, J., Jing, S., Zhu, L. & He, G. (2012) Development and characterization of japonica rice lines carrying the brown planthopper-resistance genes *BPH12* and *BPH6*. *Theoretical and Applied Genetics*, 124 (3), 485–494.
- Saxena, R.C. & Barrion, A.A. (1983) Biotypes of the planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). *Korean Journal of Plant Protection*, 22 (2), 52–66.
- Sharma, P.N., Torii, A., Takumi, S., Mori, N. & Nakamura, C. (2004) Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance genes *Bph1* and *Bph2* on rice chromosome 12. *Hereditas*, 140 (1), 61–69.
- Sogawa, K. (1981). Hybridization experiments on the three biotypes of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) at the IRRI, the Philippines. *Applied Entomology and Zoology*, 16 (3), 193–199.
- Sogawa, K. (1982) The rice brown planthopper: Feeding physiology and host plant interactions. *Annual Review of Entomology*, 27, 49–73.
- Sogawa, K., Kilin, D. & Kusmayadi, A. (1984) A *Leersia* feeding brown planthopper (BPH) biotype in North Sumatera, Indonesia. *International Rice Research Newsletter*, 9, 20.
- Tanaka, K. (1999) Quantitative genetic analysis of biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*: Heritability of virulence to resistant rice varieties. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 90, 279–287.
- Tang, M., Lv, L., Jing, S., Zhu, L. & He, G. (2010) Bacterial symbionts of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (6), 1740–1745.
- Wada, T., Ito, K. & Takahashi, A. (1994) Biotype comparisons of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera, Delphacidae) collected in Japan and the Indo-China Peninsula. *Applied Entomology Zoology*, 29 (4), 477–484.
- Wan, B.L., Zha, Z.P., Li, J.B., Xia, M.Y., Du, X.S., Lin, Y.J. & Yin, D.S. (2014) Development of elite rice restorer lines in the genetic background of R022 possessing tolerance to brown planthopper, stem borer, leaf folder and herbicide through marker-assisted breeding. *Euphytica*, 195, 129–142.
- Wang, W., Zhu, T., Lai, F. & Fu, Q. (2015) Diversity and infection frequency of symbiotic bacteria in different populations of the rice brown planthopper in China. *Journal of Entomological Science*, 50 (1), 47–66.
- Watanabe, T. & Kitagawa, H. (2000) Photosynthesis and translocation of assimilates in rice plants following phloem feeding by the planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Journal of Economic Entomology*, 93 (4), 1192–1198.
- Way, M.J. & Heong, K.L. (1994) The role of biodiversity in the dynamics and management of insect pests of tropical irrigated rice: A review. *Bulletin of Entomological Research*, 84, 567–587.
- Wenger, J.A. & Michel, A.P. (2013) Implementing an evolutionary framework for understanding genetic relationships of phenotypically defined insect biotypes in the invasive soybean aphid (*Aphis glycines*). *Evolutionary Applications*, 6, 1041–1053.
- Xu, H., Zheng, X., Yang, Y., Tian, J., Fu, Q., Ye, G. & Lu, Z. (2015) Changes in endosymbiotic bacteria of brown planthoppers during the process of adaptation to different resistant rice varieties. *Environmental Entomology*, 44 (3), 582–587.
- Xue, J., Zhou, X., Zhang, C.X., Yu, L.L., Fan, H.W., Wang, Z. et al. (2014) Genomes of the rice pest brown planthopper and its endosymbionts reveal complex complementary contributions for host adaptation. *Genome Biology*, 15, 521.
- Yang, Z., Zhang, F., Zhu, L. & He, G. (2006) Identification of differentially expressed genes in brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) responding to host plant resistance. *Bulletin of Entomological Research*, 96, 53–59.
- Yu, H., Ji, R., Ye, W., Chen, H., Lai, W., Fu, Q. & Lou, Y. (2014) Transcriptome analysis of fat bodies from two brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) populations with different virulence levels in rice. *PLoS One*, 9 (2), e88528. doi: 10.1371/journal.pone.0088528.

Yukuhiro, F., Miyoshi, T. & Noda, H. (2014) Actin-mediated transovarial transmission of a yeastlike symbiont in the brown planthopper. *Journal of Insect Physiology*, 60, 111–117.

Zhao, C., Shukle, R., Navarro-Escalante, L., Chen, M., Richards, S. & Stuart, J.J. (2016) Avirulence gene mapping in the Hessian fly (*Mayetiola destructor*) reveals a protein phosphatase 2C effector gene family. *Journal of Insect Physiology*, 84, 22–31.
